S100A6 通过巨噬细胞促结直肠癌细胞增殖的作用及机制*

陈露 黄茂 彭棋 赵佳丽 谢佳卿 林璐 户丽君 黄逸云 胡琴 周兰**

（重庆医科大学检验医学院 临床检验诊断学教育部重点实验室 重庆 400016）

摘要 目的：探讨微环境中钙周期素 S100A6 是否通过影响巨噬细胞（macrophages, Mφ）进而促进结直肠癌（colorectal cancer, CRC）细胞的增殖及其机制。方法：制备（原核表达）并鉴定带 GST（glutathione S-transferase，谷胱甘肽 S-转移酶）标签的人重组 S100A6 蛋白 (recombinant GST-hS100A6，rS100A6) 和对照蛋白 GST；采用台盼兰计数、CCK8 和结晶紫染色检测 CRC 细胞系 HCT116 的增殖能力；用定量实时聚合酶链反应检测 Mφ中 *IL-6* mRNA 水平；用 Western blot 检测 Mφ中 IL-6 的蛋白水平、HCT116 细胞中 JAK2 和 STAT3 及其磷酸化水平。结果：（1）成功制备 rS100A6 和 GST 蛋白。（2）与经 rS100A6 处理的 Mφ（即 A6-Mφ）共培养后，HCT116 细胞的增殖能力增强（$P<0.05$）；同时，HCT116 细胞中的 JAK2 和 STAT3 水平无明显变化，但其磷酸化水平提高（$P<0.05$）。（3）A6-Mφ中，IL-6 的 mRNA 和蛋白水平均升高（$P<0.05$）。（4）在 HCT116 与 A6-Mφ的共培养体系中加入 IL-6R 封闭肽后，A6-Mφ促 HCT116 细胞的活力和增殖能力的作用被部分逆转（$P<0.05$）。 结论：微环境中的 S100A6 可通过上调巨噬细胞中 IL-6 的表达、进而激活 HCT116 细胞中 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路来促进 CRC 细胞的增殖。

关键词 S100A6；巨噬细胞；结直肠癌；IL-6/JAK2/STAT3 信号通路

---

* 重庆市渝中区科技计划项目（基础与前沿研究）（编号：20160106）

**通讯作者，电子信箱: zhoulan0111@ foxmail.com

结直肠癌（colorectal cancer, CRC）是消化道最常见的恶性肿瘤之一，其发病率和死亡率在全球分别排第三和第四位[1]。在中国，其发病率逐年上升，并呈年轻化趋势；进展期或中晚期 CRC 的 5 年死亡率高。靶向治疗与放化疗的联合应用是目前的主要选择；但是，效果不如人意，预后不良。因此，探究 CRC 的发病机理和寻找新的防治靶标具有重要意义。

肿瘤微环境（tumor microenvironment，TME）由肿瘤细胞、肿瘤干细胞、基质细胞、免疫细胞等组成，不同细胞之间相互影响（尤其肿瘤细胞与免疫细胞之间），共同调控肿瘤的发展。巨噬细胞（macrophages，Mφ）是浸润到 TME 中数量最多的免疫细胞，占肿瘤间质细胞的 30%-50%，可通过多种方式促进肿瘤的发生发展，如免疫逃逸、细胞活化和增殖、肿瘤的迁移和侵袭等[2]。在 CRC 中，Mφ的浸润显著增加，参与促进 CRC 的生长和侵袭[3,4]，并与病人的治疗失败和预后不良密切相关。然而，CRC 微环境中 Mφ与癌细胞间的相互作用和分子机制尚未完全阐明。

钙周期素 S100A6 是 S100 家族成员，参与调控细胞增殖、凋亡、细胞骨架重塑和应激反应等[5]；在 CRC 组织和细胞系中，S100A6 呈高表达，并促进 CRC 细胞增殖、迁移和侵袭[6]，与病人的不良预后密切相关。S100A6 也是一种分泌蛋白，可通过旁/自分泌方式与靶细胞表面的糖基化终末产物受体（receptor for advanced glycation end products，RAGE）和 Toll 样受体结合而发挥作用[7]；Mφ既有 RAGE 表达，也有相应的信号转导机制[8,9,10]。基于此，我们假设微环境中的 S100A6 可能因此而参与巨噬细胞的调控。已知，S100A12 和 S100B 通过 RAGE 信号通路激活 Mφ[11]，并且活化的 Mφ能够分泌 IL-10、IL-6 等细胞因子[8]。因此，本研究拟探讨 S100A6 是否可能通过影响 Mφ中 IL-6 的表达进而影响 CRC 的发展。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞　人结直肠癌细胞系 HCT116 由重庆医科大学附属第一医院分子肿瘤及表观遗传学重庆市重点实验室馈赠；人单核巨噬细胞系 THP-1 由本实验室（重庆医科大学临床检验诊断学教育部重点实验室）所保存。

1.1.2 质粒及细菌　重组质粒 pGST-moluc-hS100A6 和 pGST-moluc 由芝加哥大学医学中心分子肿瘤实验室馈赠。感受态 E.coli BL21 为本实验室所保存。

1.1.3 Transwell 小室：Corning 公司产品，直径 24mm，孔径 0.4μm。

1.1.4 主要试剂　DMEM /HIGH GLUCOSE 培养基、RPMI 1640 培养基均购自 Hyclone 公司；胎牛血清购自 Gibco 公司；佛波酯（PMA）购自美国 Sigma 公司；人 IL-6R 封闭肽购自 santa cruze；TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司；反转录试剂盒和实时荧光定量 PCR 试剂盒 TB Green II （Tli RNaseH Plus）购自日本 TaKaRa 公司；PCR 用 *IL-6* 和内参 *GADPH* 基因引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成；蛋白质提取和 Western blot 检测相关试剂购自上海碧云天生物技术研究所；兔抗人 S100A6 单克隆抗体和鼠抗人 GST 单克隆抗体均购自美国 Abcam 公司；鼠抗人 IL-6 多克隆抗体购自 Bioss 公司；兔抗人 t-JAK2 和 p-JAK2 单克隆抗体购自戴格公司；兔抗人 t-STAT3 和 p-STAT3 单克隆抗体购自 CST 公司；鼠抗人 β-actin 单克隆抗体、山羊抗兔 IgG 和山羊抗鼠 IgG 均购自中国北京中杉金桥生物技术有限公司；ECL 试剂盒购自美国 Pierce 公司；其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养　HCT116 细胞和 THP-1 细胞均置于 37℃、CO_2 体积分数为 5%的恒温培养箱中培养。HCT116 细胞为贴壁生长，用 DMEM 高糖完全培养液（含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素）培养，2～3 d 后用 0.25%胰蛋白酶消化并传代；THP-1 细胞为悬浮聚团生长，用 RPMI 1640 完全培养液（含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素）培养，2～3 d 后直接进行传代。

1.2.2 重组蛋白 rS100A6 和 GST 的制备及鉴定　方法同文献[12] 。后续实验中除特殊说明外，这两种重组蛋白的终浓度均为 100μg/mL。

1.2.3 S100A6 处理后的巨噬细胞对 HCT116 细胞活力和增殖能力的作用检测

1）S100A6 处理的巨噬细胞即 A6-Mφ的制备：接种对数生长期的 THP-1 细胞于 Transwell 小室（$2×10^5$ 细胞/孔），用 100ng/mL PMA 诱导 24h 后更换新鲜无血清培养基[13]，再加入 rS100A6 或 GST，24h 后再次更换新鲜无血清培养基，此即 A6-Mφ。

2）共培养及细胞活性和增殖能力的检测：接种对数生长期的 HCT116 细胞于六孔板中（$2×10^5$ 细胞/孔），与已制备的位于 Transwell 小室中的 A6-Mφ共培养 24h；对照组的 HCT116 细胞则只用 rS100A6 或 GST 处理 24h。用台盼兰计数、CCK8 和结晶紫染色检测 HCT116 细胞活性和增殖能力。

3）挽救实验：在 HCT116 与 A6-Mφ的共培养体系加入 IL-6R 封闭肽（1μg/mL），培养 24h。用上述三种方法检测 HCT116 细胞的活力和增殖能力。

1.2.4 SDS-PAGE 和 Western blot 检测蛋白和磷酸化蛋白

1）待测蛋白的制备：待测蛋白样品包括用蛋白裂解液提取 A6-Mφ和 HCT116 细胞的总蛋白（BCA 法测定并调节其浓度）和自制的 rS100A6 和 GST 蛋白，均

煮沸 10min 备用。

2）SDS-PAGE：SDS-PAGE 分离前述蛋白样品；电泳后的胶或用考马斯亮蓝染色，以鉴定其分子量，或用于后续的 Western blot 检测。

3）Western blot 和图像采集、分析：电泳后，采用湿转法转移胶上蛋白至 PVDF 膜，5%BSA 37℃封闭 2h。分别加入兔抗人 S100A6 单抗、鼠抗人 GST 单抗、鼠抗人 IL-6 多抗、兔抗人 p-JAK2 单抗、兔抗人 t-JAK2 单抗、兔抗人 p-STAT3 单抗、兔抗人 t-STAT3 单抗和鼠抗人β-actin 单抗（除鼠抗人β-actin 单抗体积稀释比例为 1:500 以外，其他抗体体积比例均为 1:1000）于 4℃孵育过夜；1%TBST 洗膜后分别加入相应的二抗（体积稀释比例为 1:5000），37℃ 孵育 1h；1%TBST 洗膜后，采用 ECL 发光液显色，通过凝胶成像系统采集图像，应用 Image Lab 5.1 软件分析条带。

1.2.5 定量实时酶链聚合反应(quantitative real time polymerase chain reaction,qPCR)　PMA 诱导后的 Mφ以 2×10^5/孔接种于六孔板中，加入 rS100A6（30μg/mL、60μg/mL、100μg/mL）或 GST（100μg/mL），培养 24h 后收集细胞，提取总 RNA，取其中 1μg 逆转录为 cDNA，并稀释 4 倍后，以 1μL cDNA 为模板，以 *GADPH* 作为内参基因（引物序列：上游 5'-CAGCGACACCCACTCCTC-3'，下游 5'- TGAGGTCCACCACCCT -3'）检测 A6-Mφ中 *IL-6* 基因的表达水平（引物序列：上游 5'-GGCCCTTGCTTTCTCTTCG-3'，下游 5'-ATAATAAGTTTTGATTATGT-3'）。实时荧光定量 PCR 反应体系（10μL）：SYBR 酶 5μL，上下游引物混合液 1μL，ddH_2O 3μL，cDNA 模板 1μL。PCR 反应条件：94℃预变性 3min；94℃变性 40s；56℃退火 30s；72℃延伸 40s，40 个循环；最后 65℃ 5s。采用 BioRad 软件进行目的基因表达水平分析，用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS17.0 和 GraphPad Prism5 软件对各实验结果进行统计学分析。所有实验均独立重复 3 次，结果数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。多组间均数的比较采用单因素方差分析，组内两两比较采用 *LSD-t* 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 rS100A6 和 GST 重组蛋白的制备和鉴定

SDS-PAGE 结果（图 1a）显示，制备的 rS100A6 蛋白和 GST 蛋白的相对分子质量为 36KD 和 26KD，符合预期。Western blot（图 1b）检测显示，rS100A6 蛋白能够被兔抗人 S100A6 单抗识别，GST 蛋白能够被鼠抗人 GST 单抗识别。提示这两种蛋白制备成功，将用于后续试验。

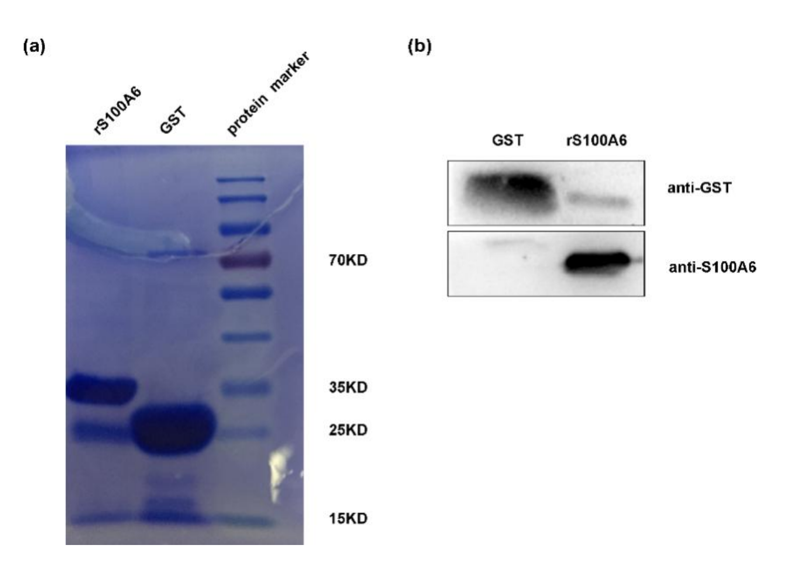


图 1 重组蛋白的鉴定（a.SDS-PAGE 和 b.Western blot）

Fig.1 Identification of the recombinant protein glutathione S-transferase (GST) and GST-human S100A6 (rS100A6) （a.SDS-PAGE; b.Western blot)

2.2 人单核巨噬细胞系 THP-1 经 PMA 诱导为巨噬细胞

经 PMA 诱导 24 小时后，人单核巨噬细胞系 THP-1 由悬浮生长转变为贴壁生长并生出伪足，此即巨噬细胞。

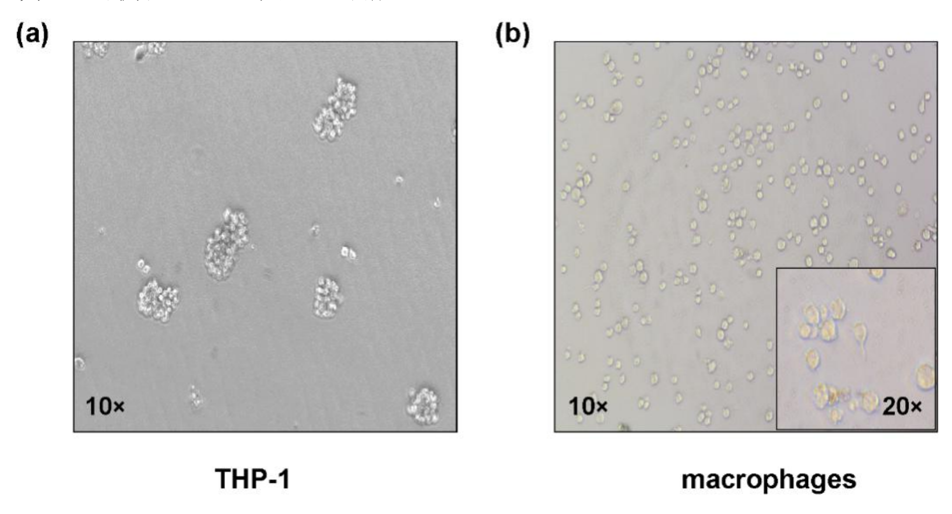


图 2 THP-1（a）被 PMA 诱导成为巨噬细胞（b）

Fig.2 THP-1 (a) were induced to macrophages (b) by PMA.

2.3 S100A6 可经由巨噬细胞增强其促进结直肠癌细胞 HCT116 增殖的作用

将 rS100A6 和 GST 分别处理的 Mφ（A6-Mφ和 GST-Mφ）与 HCT116 共培养，台盼兰计数（图 3a）、CCK8（图 3b）和结晶紫染色（图 3c）检测发现 A6-Mφ组的 HCT116 活细胞数量、OD_{490}和细胞活力均更高（$P<0.05$），一致提示 S100A6 除直接作用外，还能够通过巨噬细胞进一步促进 HCT116 细胞的增殖。

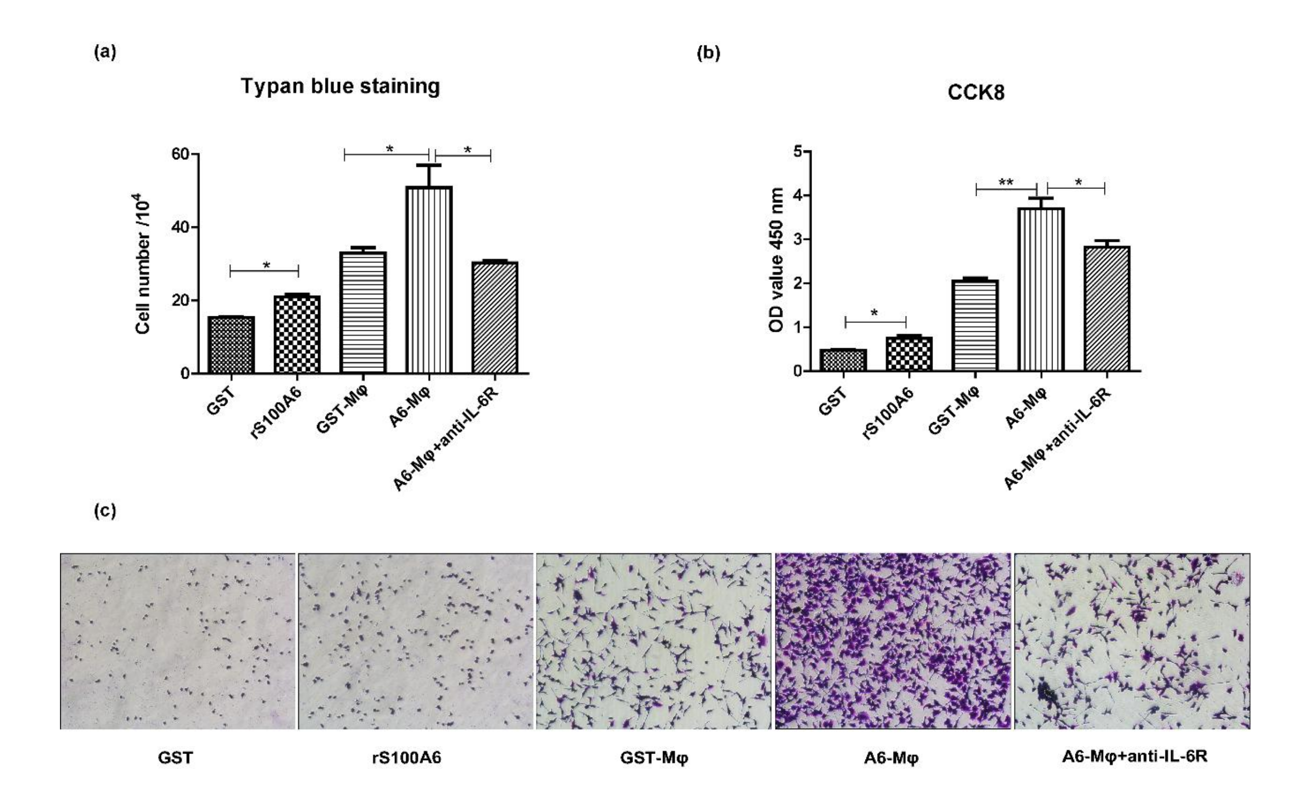


图 3　rS100A6 处理后的巨噬细胞对 HCT116 细胞增殖的影响

（a.台盼兰计数;b.CCK8 和 c.结晶紫染色法（10×））

Fig.3　The influence of macrophages pre-treated by rS100A6 on proliferation of HCT116 cells.

(a.Typan blue staing; b.CCK8 and c.Crystal violet staing(10×))

*P<0.05;** P<0.01; ***P<0.001(n=3)

2.4 S100A6 上调巨噬细胞 IL-6 的表达

根据文献，我们推测 IL-6 可能是 rS100A6 处理 24h 后的 Mφ（A6-Mφ）促进 HCT116 细胞增殖的重要介质。通过 qPCR 和 Western blot 检测，我们发现 A6-Mφ中不仅 *IL-6* mRNA 呈剂量依赖性升高（图 4a，P<0.01），其蛋白水平也是升高的（图 4b）。这些结果一致提示 S100A6 具有上调 Mφ中 IL-6 表达的作用。

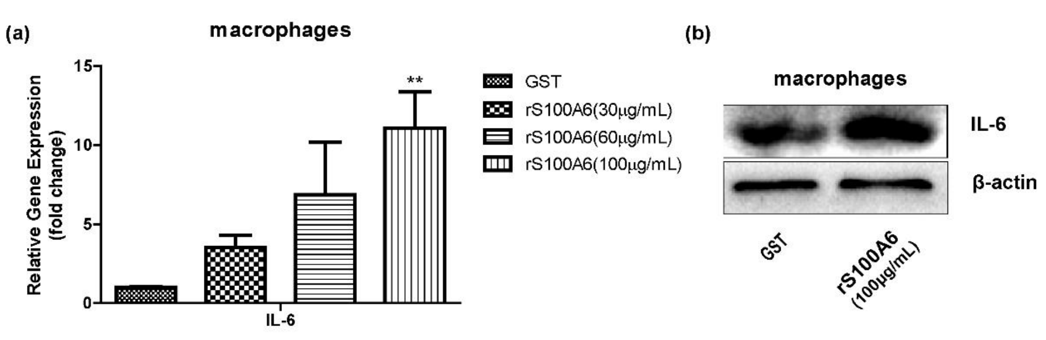


图 4　rS00A6 对巨噬细胞中 IL-6 的 mRNA 和蛋白水平的影响

(a.qPCR 和 b. Western blot)

Fig.4 The effect of rS100A6 on the mRNA and protein levels of IL-6 in macrophages. (a.qPCR and b. Western blot) **P*<0.05; *P*<0.01; ****P*<0.001(*n*=3)**

2.5 S100A6 通过巨噬细胞促进 HCT116 增殖的作用与 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的激活有关。

在 A6-Mφ与 HCT116 共培养体系中加入 IL-6R 封闭肽（anti-IL-6R）培养 24h，采用台盼兰计数（图 3a）、CCK8（图 3b）和结晶紫染色（图 3c）检测，三者的结果是一致的，即 HCT116 活细胞的数量、OD_{490} 和细胞的活力均低于对照组（*P*<0.05）。提示，IL-6R 封闭肽可部分逆转 S100A6 通过 Mφ介导的促 HCT116 细胞增殖的作用，即 IL-6 信号通路的激活是 S100A6 通过 Mφ促 HCT116 增殖的重要机制。

Western blot 的结果（图 5）显示，与 GST-Mφ组相比，A6-Mφ与 HCT116 共培养组的 HCT116 中 p-JAK2、p-STAT3 的蛋白水平增加（*P*<0.05），而 t-JAK2 和 t-STAT3 的蛋白水平无明显变化。该结果进一步提示，IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的激活涉及 S100A6 通过巨噬细胞促进 HCT116 增殖的作用。

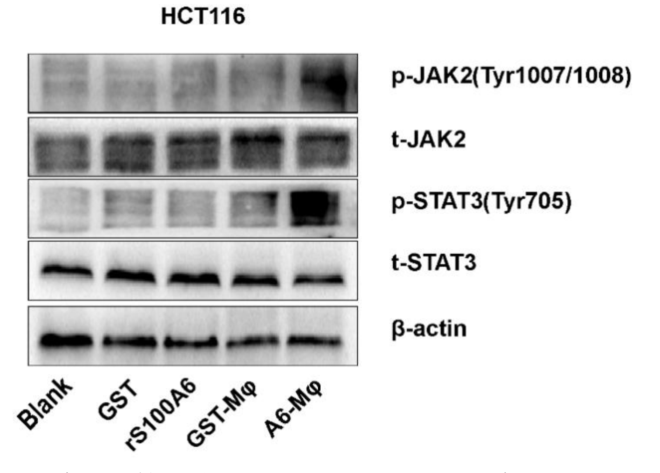


图 5 rS00A6 诱导后的巨噬细胞对 HCT116 细胞中 JAK2、STAT3 及其磷酸化水平的影响（Western blot）

Fig.5 The influence of macrophages pre-treated by rS100A6 on the levels of t-JAK2, p-JAK2, t-STAT3 and p-STAT3 in HCT116 cells. (Western blot)

3 讨论

CRC 是最常见的恶性肿瘤之一，在全球以及我国的恶性肿瘤中发病率和死亡率均位居前列[14]。CRC 的发生发展过程复杂，是多因素参与的多阶段的病理过程。目前开发的一些新型靶向治疗药物已广泛应用于 CRC 的临床治疗，但其较低的五年生存率及高复发率依然是临床上所面临的极大挑战。

CRC 微环境中 S100A6 的存在表明其可通过调控 TME 而参与 CRC 的进程，

TME 中的间质细胞均可能是 S100A6 作用的靶细胞；Mφ是肿瘤间质细胞中的主要和重要成分。文献报道，包括 Mφ在内的髓系细胞能够通过 RAGE 和 TLR4 信号途径促进促瘤微环境的形成[8]。S100A7/RAGE 信号通路促使 Mφ向乳腺癌组织趋化[9]，并参与调控 Mφ向 M2 型肿瘤相关巨噬细胞分化和上调 Mφ中 MMP9 的表达，从而促进乳腺癌的生长和转移[10]。但是目前尚未见关于 S100A6 经由 Mφ对 CRC 进程的影响的报道。本研究发现，S100A6 能够上调 Mφ中 IL-6 的表达。IL-6 是一个重要的促肿瘤因子，在多种肿瘤中发挥关键性作用，如：黑色素瘤、乳腺癌、CRC 等[15]。在胶质瘤中，S100B 招募和调控 Mφ并上调 Mφ中 IL-6 的表达[16]。IL-6 还可促进 Mφ向 M2 型 TAM 分化，从而促进 CRC 的生长[17]。在 CRC 病人的血清和肿瘤部位均能能检测出高水平的 IL-6，并且 IL-6 的表达水平与肿瘤的分期、大小以及病人的不良预后均密切相关[18]。IL-6 与 sIL-6R 结合后通过 gp130 活化下游的 JAKs 和转录因子 STAT3，促进肿瘤细胞的增殖和抑制凋亡[18]。STAT3 磷酸化后促进下游靶基因的转录，如：肿瘤细胞活力（Bcl-2,Mcl-1）、增殖（c-Myc,CyclinD1）等。我们在 Mφ中检测到了 IL-6 的表达升高（图 4a、4b）。

但是 IL-6 是否是参与了 A6-Mφ促 HCT116 增殖的作用呢？我们在 A6-Mφ与 HCT116 共培养体系中加入 IL-6R 封闭肽，发现 A6-Mφ促 HCT116 增殖的作用被部分逆转（图 3）。进一步证实了我们的假设，即 IL-6 及其下游信号通路的激活是 A6-Mφ促进 HCT116 活力和增殖能力提高的机制之一。A6-Mφ中 IL-6 的分泌增加，进一步磷酸化 HCT116 中 JAK2 和 STAT3（图 5），从而提升 HCT116 细胞的活力和增殖能力。至此，我们认为微环境中 S100A6 促进 CRC 发展的机制中，除对 CRC 细胞的直接促增殖作用外，还有通过作用于 Mφ而实现的间接促增殖作用。

综上，微环境中的 S100A6 可通过促进巨噬细胞中 IL-6 的分泌、进而激活 HCT116 中 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路来促进 CRC 细胞 HCT116 的增殖。本文为进一步阐明 S100A6 影响 CRC 发生发展的机制提供了新的实验依据，为改进 CRC 的诊断和治疗提供了新的线索。

参考文献

[1]Weitz J, Koch M, Debus J, et al. Colorectal cancer. Lancet, 2005, 365(9454):153-165.

[2]Komohara Y, Fujiwara Y, Ohnishi K, et al. Tumor-associated macrophages: Potential therapeutic targets for anti-cancer therapy. Advanced Drug Delivery Reviews, 2016, 99(Pt B):180-185.

[3]Erreni M, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated Macrophages (TAM) and

Inflammation in Colorectal Cancer. Cancer Microenvironment, 2011, 4(2):141-154.
[4]Nakayama Y, Nagashima N, Minagawa N, et al. Relationships between tumor-associated macrophages and clinicopathological factors in patients with colorectal cancer. Anticancer Research, 2002, 22(6C):4291-4296.
[5]Donato R, Sorci G, Giambanco I. S100A6 protein: functional roles. Cellular & Molecular Life Sciences, 2017, 74(4):2749-2760.
[6]Duan L, Wu R, Zou Z, et al. S100A6 stimulates proliferation and migration of colorectal carcinoma cells through activation of the MAPK pathways. International Journal of Oncology, 2014, 44(3):781-90.
[7]Donato R, Cannon B R, Sorci G, et al. Functions of S100 Proteins. Current Molecular Medicine, 2013, 13(1):24-57.
[8]Byun K, Yoo Y, Son M, et al. Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases. Pharmacology & Therapeutics, 2017,177:44-55.
[9]Nasser M W, Qamri Z, Deol Y S, et al. S100A7 enhances mammary tumorigenesis through upregulation of inflammatory pathways. Cancer Research, 2012, 72(3):604-615.
[10]Nasser M W, Wani N, Ahirwar D K, et al. RAGE mediates S100A7-induced breast cancer growth and metastasis by modulating the tumor microenvironment. Cancer Research, 2015, 75(6):974-985.
[11]Chavakis T, Bierhaus A, Nawroth P P. RAGE (receptor for advanced glycation end products): a central player in the inflammatory response. Microbes Infection, 2004, 6(13):1219-1225.
[12]Duan L, Wu R, Zou Z, et al. S100A6 stimulates proliferation and migration of colorectal carcinoma cells through activation of the MAPK pathways. International Journal of Oncology, 2014, 44(3):781-90.
[13]Zha H, Sun H, Li X, et al. S100A8 facilitates the migration of colorectal cancer cells through regulating macrophages in the inflammatory microenvironment. Oncology Reports, 2016, 36(1):279-290.
[14]Forman D, Ferlay J, Jemal A, et al. Global cancer statistics. Ca A Cancer Journal for Clinicians, 2015, 65(2):87-108.
[15]Kampan N C, Xiang S D, Mcnally O M, et al. Immunotherapeutic Interleukin-6 or Interleukin-6 receptor blockade in cancer: challenges and opportunities. Current Medicinal Chemistry, 2017, 24(00):1-22.
[16]Wang H, Zhang L, Zhang I Y, et al. S100B promotes glioma growth through chemoattraction of myeloid-derived macrophages. Clinical Cancer Research An Official

Journal of the American Association for Cancer Research, 2013, 19(14):3764-3775.
[17]CM Wunderlich, PJ Ackermann, AL Ostermann, et al. Obesity exacerbates colitis-associated cancer via IL-6-regulated macrophage polarisation and CCL-20/CCR-6-mediated lymphocyte recruitment. Nature Communication, 2018, 9(1):1646
[18]Waldner M J, Sebastian F, Neurath M F. Interleukin-6 - A Key Regulator of Colorectal Cancer Development. International Journal of Biological Sciences, 2012, 8(9):1248-1253.

S100A6 Promotes Cell Proliferation of Colorectal Cancer Via Upregulating IL-6 Expression of Macrophages.

CHEN Lu HUANG Mao PENG Qi ZHAO Jia-li XIE Jia-qing LIN Lu Hu Li-jun HUANG Yi-yun HU Qin ZHOU Lan*

(Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics of Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract Objective: To explore whether Calcyclin S100A6 in tumor microenvironment promotes cell proliferation of colorectal cancer(CRC) through affecting macrophages (Mφ) and its mechanism. Methods: Prokaryotic expression was used to prepare recombinant human protein GST-S100A6 (rS100A6) and GST (as control). THP-1 were induced to Mφ by PMA (Phorbol-12-myristate-13-acetate). A6-Mφ were the macrophages which were treated with rS100A6 for 24h. The proliferation of CRC HCT116 cells was detected by Trypan blue staining, CCK8 and crystal violet staining. IL-6 mRNA and protein level in A6-Mφ were tested with quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and Western blot, respectively. The protein levels of total JAK2 and STAT3 (t-JAK2 and t-STAT3) and the phosphorylated JAK2 and STAT3 (p-JAK2 and p-STAT3) in HCT116 cells were detected by Western blot. Results: (1) rS100A6 and GST were prepared successfully. (2) A6-Mφ promoted proliferation of HCT116 cells (P<0.05). (3) rS100A6 upregulated IL-6 expression in macrophages (P<0.05). (4) IL-6R blocking antibody partly reversed the facilitation of

A6-Mφ to proliferation of HCT116 cells ($P<0.05$). (5) A6-Mφ increased protein levels of p-JAK2 and p-STAT3 in HCT116 cells ($P<0.05$), but not t-JAK2 and t-STAT3. Conclusion: S100A6 in tumor microenvironment facilitates proliferation of HCT116 cells through upregulating IL-6 expression in macrophages and activating IL-6/JAK2/STAT3 pathway in HCT116 cells.

Key words S100A6; macrophages; CRC; IL-6/JAK2/STAT3 pathway